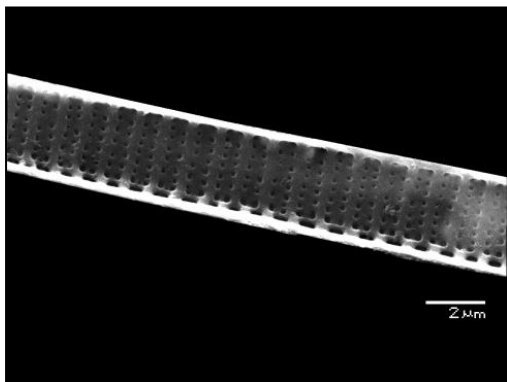


The effects of toxic algal blooms on the functioning of the mussel *Mytilus edulis*

Bolinius Dämien

Research Group Environmental Toxicology; Protistology and Aquatic Ecology
Oceans & Lakes (VUB, UA, UGent)
E-mail: damien.bolinius@itm.su.se

Een van de voorspellingen gelinkt aan de gevolgen van 'global change' is een frequenter voorkomen van schadelijke algenbloeien. Ongeveer 1 op 4 soorten van deze groep algen is in staat om toxines te produceren die direct of indirect tot schade kunnen leiden in andere organismen. Een voorbeeld hiervan zijn diatomeeën van het genus *Pseudo-nitzschia* (Fig. 1), waarvan de meeste soorten wereldwijd voorkomen. Tot nu toe zijn er twaalf soorten van dit genus gevonden die detecteerbare hoeveelheden van het toxine domoic acid (DA) produceren.



In de mens is dit toxine gelinkt aan de ziekte 'amnesic shellfish poisoning' (ASP), een gevolg van de consumptie van met domoic acid besmet zeevoedsel, voornamelijk van schelpdieren zoals mosselen en oesters. Enkele symptomen van ASP in de mens zijn gastro-intestinale aandoeningen zoals krampen, overgeven en diarree maar ook zware hoofdpijn en in sommige gevallen een permanent verlies van het kortetermijngeheugen. Tijdens een grote uitbraak in Canada in de jaren 80 waarbij er 107 mensen besmet geraakt waren, bezweken er 3 personen aan hun aandoeningen.

Fig. 1. SEM-foto van een *Pseudo-nitzschia pungens* cel

Filtervoeders spelen een belangrijke rol in de overdracht van domoic acid tussen verschillende trofische niveaus omdat ze vanwege hun hoge filtratiesnelheden in staat zijn om in korte tijd hoge concentraties te verkrijgen. Strengere monitoringsprogramma's van schelpdiergebieden verhinderen tegenwoordig dat de toxines tot bij de consument geraken door een tijdelijke sluiting van deze gebieden in te stellen totdat de concentraties van DA in de organismen onder 20 µg/g schelpdier weefsel gezakt zijn.

Het is aangetoond dat mosselen veel hogere concentraties aan DA kunnen verkrijgen dan oesters. Er is echter weinig geweten wat de effecten zijn op de mossel zelf. Bloeien van *Pseudo-nitzschia* zullen mogelijk frequenter voorkomen in de toekomst en gedurende langere periodes actief blijven als gevolg van 'global change' en eutrofiëring. Een verhoogde blootstelling aan *Pseudo-nitzschia* kan dan een significante impact hebben op de groei van de mossel en de daaraan gelinkte industrie.

In deze studie werd onderzocht wat de effecten zijn van een blootstelling aan realistische concentraties van *Pseudo-nitzschia* op de groei en gezondheid van de mossel *Mytilus edulis*.

De mosselen werden blootgesteld aan 3 verschillende strains van *Pseudo-nitzschia*: 1 strain van *P. pungens*, een soort waarvan er geen detecteerbare hoeveelheden DA gevonden zijn en 2 strains van *P. multiseriata*, één van de meest toxische soorten *Pseudo-nitzschia*. Beide soorten zijn zeer gelijkaardig op morfologisch vlak en kunnen enkel onderscheiden worden door middel van elektronenmicroscopie of DNA analyse.

In totaal werden er 7 behandelingen opgesteld met elk hun specifiek dieet (Tabel I). De *Pseudo-nitzschia* cellen werden gemengd met verschillende hoeveelheden van een commercieel beschikbare schelpdiervoeding 'Shellfish Diet' in overeenstemming met de percentages *Pseudo-nitzschia* cellen voorkomend in algenbloeien zoals gerapporteerd in de literatuur. Een extra dieet volledig bestaande uit 'Shellfish diet' diende als controlegroep. De concentraties van DA in de cellen en in het water werden geanalyseerd voor elk van de diëten en de mosselen werden dagelijks gevoed met een hoeveelheid overeenkomend met 2% van hun gemiddeld drooggewicht.

Tabel I. Overzicht van de verschillende behandelingen

Behandeling	<i>Pseudo-nitzschia</i> strain	Percentage toegevoegd shellfish diet
1	/ Controle groep	100
2	<i>P. pungens</i>	~27
3	<i>P. pungens</i>	~85
4	<i>P. multiseri</i> (CCAP)	~27
5	<i>P. multiseri</i> (CCAP)	~85
6	<i>P. multiseri</i> (US)	~27
7	<i>P. multiseri</i> (US)	~85

Gedurende een blootstelling van 45 dagen werden er op 4 punten stalen genomen (op dag 1, 8, 22 en 29). Hierbij werden de concentraties van DA bepaald in het weefsel van de mosselen en in het water. De groei van de mosselen werd opgevolgd en de 'condition index' van de mosselen werd berekend op basis van de fractie droog weefsel gewicht op totaal gewicht van de mossel.

De scope for growth van de mosselen (P) werd bepaald door het opmeten van de respiratie, de excretie van ammonia, de klaring (clearance rate) en de assimilatie efficiëntie. De resultaten hiervan werden dan gebruikt voor het opstellen van de balans vergelijking : $P=A-(R+U)$, waarbij A staat voor de geassimileerde hoeveelheid energie en R en U voor de energie verloren door middel van respectievelijk de respiratie en de excretie van ammonium. In essentie geeft de scope for growth een schatting van de hoeveelheid energie die beschikbaar is voor de groei van de mossel. Deze methode is eerder reeds succesvol toegepast in het analyseren van de effecten van milieuverontreiniging op schelpdieren.

De effecten op het immuunsysteem werden onderzocht door het opmeten van de enzymatische activiteit van phenoloxidase, dat een grote rol speelt in het adaptieve immuunsysteem van invertebraten.

Een blootstelling gedurende 45 dagen aan realistische concentraties van *Pseudo-nitzschia* leverde geen meetbare concentraties van DA in de mosselweefsels op. Er werd ook geen significante impact gevonden op de respiratie, de excretie van ammonium of de klaring. De condition index daalde licht in alle behandelingen wat er op zou kunnen wijzen dat de hoeveelheid voedsel ontoereikend was voor een effectieve groei van de mosselen.

Omdat er geen DA in meetbare hoeveelheden werd aangetroffen in de weefsels is het niet mogelijk om te zeggen wat het effect hiervan is op de phenoloxidase activiteit. Er werden geen verschillen in enzymatische activiteit gevonden tussen de verschillende behandelingen.

Opvallend was wel dat de mosselen blootgesteld aan hogere percentages van *Pseudo-nitzschia* (85%) bijna uitsluitend pseudo feces produceerden. Dit in tegenstelling tot alle andere behandelingen waarin er nauwelijks pseudo feces werden waargenomen (Fig. 2).

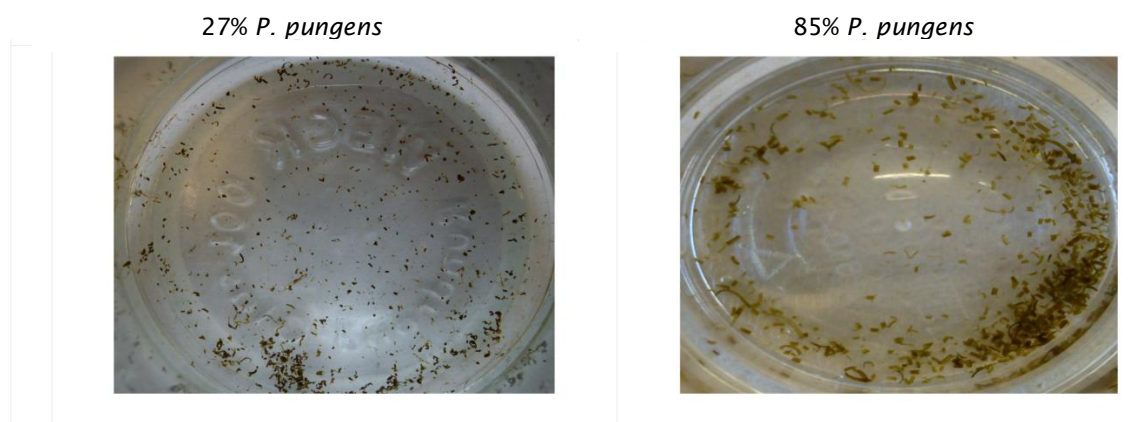


Fig. 2. Voorbeeld van de feces (vrij donker en compact) en pseudo-feces (lichter van kleur en minder compact) verzameld van twee verschillende behandelingen met *P. pungens*

Deze observatie duidt erop dat mosselen actief de *Pseudo-nitzschia* cellen weigeren te verteren wanneer ze in hoge concentraties aanwezig zijn in de bloei maar niet wanneer er een grotere fractie

van de bloei uit andere algensoorten bestaat. Deze bevinding werd gemaakt voor zowel *P. pungens* als *P. multiseriis* en is dus onafhankelijk van de toxiciteit van de strain.

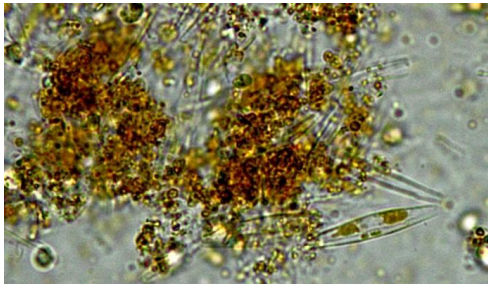


Fig. 3. Detailfoto van de pseudo feces en het slijm waarin ze uitgescheiden worden. De kleinere cellen zijn afkomstig van het 'Shellfish diet', de grotere langwerpige cellen zijn de *Pseudo-nitzschia*

De productie van pseudo feces kan voordelig zijn voor de mossel door de opname van DA te verminderen, maar het verlaagt hierbij ook de hoeveelheid energie die opgenomen wordt via het voedsel. Tegelijkertijd worden de energetische kosten voor de mossel verhoogd vanwege de aanmaak en excretie van de slijmen nodig voor de productie van de pseudo feces (Fig. 3).

Theoretisch gezien zou een blootstelling aan een bloei met een hoog percentage *Pseudo-nitzschia* cellen de groei van de mossel dus inderdaad kunnen beperken. Bijkomend onderzoek is echter nodig om dit te bevestigen en in te schatten wat het effect hiervan kan zijn voor de mosselindustrie.